

Pre-emptive effects of MK-801 and morphine on behavioural responses in experimental chronic constriction sciatic nerve injury in adult male rats

Hamidi GA^{1,2}, Manaheji H^{1*}, Janahmadi M¹ and Salami M²

¹Dept. of Physiology, Neuroscience Research Center, School of Medicine, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran. ²Dept. of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kashan, University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Abstract

Introduction: Neuropathic pain syndromes are changes resulting from damage to neuronal pathways that are characterized by spontaneous burning sensation with accompanying allodynia and hyperalgesia. Since the treatments of neuropathic pain are poorly understood and existing treatments are often ineffective, it is important to increase our understanding of the neuropathic pain states in order to identify strategies for the development of effective therapies. The purpose of this study was to investigate the involvement and pre-emptive treatment of morphine and / or NMDA receptor antagonist MK-801, and co-administration of both drugs on behavioural responses in an experimental model of neuropathic pain (CCI).

Methods: Experiments were performed on six groups (n=8) of male Sprague-Dawley rats (230-280g). In the groups that received drugs, two groups were injected with MK-801 (0.3 mg/kg, 20 min before, and 6 h after the operation) or morphine (8 mg/kg, 30 min prior to the operation). Another group received both drugs with the same doses and protocols. Finally, one group received normal saline in same volumes. The animals were tested for allodynia and hyperalgesia reactions at 0, 3, 7, 14, 21 and 28 days after CCI of the sciatic nerve.

Results: Our data revealed that the CCI produces mechanical and cold allodynia and a hypersensitivity to noxious stimulations. MK-801 and morphine produced only a slight cold anti-allodynic response. On the other hand, co-injection of morphine and MK-801 markedly reduced cold allodynia at the days 7 (P<0.01), 14 (P<0.05) and 21 (P<0.05) when compared with the saline group. However, there was slight alleviation of the mechano allodynia, and, heat- and mechano-hyperalgesia. Results demonstrate that the CCI model importantly influences the behavioural responses to both the thermal and mechanical stimulations.

Conclusion: We conclude that co-administration of both drugs can be more effective than MK-801 and morphine administered alone in the induced neuropathic pain.

Keywords: Pre-emptive, Neuropathic pain, Allodynia, Hyperalgesia, MK-801, Morphine

* Corresponding Author Email: hmanaheji@yahoo.com

اثرات پیش درمانی MK-801 و مورفین بر روی پاسخهای رفتاری در یک ضایعه فشاری مزمن عصب سیاتیک در موش صحرائی نربالغ

غلامعلی حمیدی^{۱*}، هما مانهجی^{۱*}، مهیار جان احمدی^۱ و محمود سلامی زواره^۲
۱- دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب
۲- دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی

دریافت: دی ۱۳۸۴ بازبینی: اسفند ۱۳۸۴ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۵

چکیده

مقدمه: آسیب عصبی یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده دردهای نوروپاتی می باشد که با علائمی مثل درد خودبخودی، آلودینیا و هایپرآلژیا همراه است. با توجه به اینکه درمانهای دارویی در دردهای نوروپاتی بطور کامل شناخته نشده است و درمانهای فعلی چندان موثر نیست. لذا ضروری است که دانش خویش را در خصوص دردهای نوروپاتی و درمانهای آن افزایش دهیم. هدف از این مطالعه بررسی تجویز جداگانه و توأم مورفین و MK-801 بصورت پیش‌درمانی بر روی پاسخهای رفتاری در یک ضایعه فشاری مزمن عصب سیاتیک یا مدل CCI می باشد.

مواد و روشها: ۶ گروه که هر گروه شامل ۸ سر موش صحرائی نر نژاد Sprague-Dawley بود، در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم مورد آزمایش قرار گرفت. در گروههای دریافت کننده دارو، یک گروه تجویز مورفین (۳۰،۸ mg/kg) قبل از عمل جراحی) و در گروه دیگر MK-801 (۰،۳ mg/kg) ۲۰ دقیقه قبل از عمل جراحی و دوز تکمیلی به همین میزان ۶ ساعت بعد از عمل جراحی) و در گروه سوم تجویز توأم این دو دارو با همان دوز و فاصله زمانی و در گروه چهارم به عنوان شاهد تجویز سالین انجام گردید. سپس مدل نوروپاتی CCI ایجاد شد و پاسخ های رفتاری حیوانات نسبت به محرکهای حرارتی، مکانیکی غیر دردناک، و نیز محرکهای حرارتی و مکانیکی دردناک قبل از عمل جراحی و ۳، ۲۱، ۱۴، ۷، ۲۸ روز بعد از عمل جراحی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: پاسخهای رفتاری گروه CCI در مقابل گروه شاهد نسبت به محرکهای غیر دردناک و دردناک افزایش معنی داری داشت. که بترتیب نشانگر پدیده های آلودینیا و هایپرآلژیا میباشد. حیوانات دریافت کننده مورفین، گروه دریافت کننده MK-801 در مقایسه با گروه سالین اختلاف معنی داری نشان ندادند ولی درحیوانات دریافت کننده توأم مورفین و MK-801 در مقایسه با گروه سالین، آلودینیا و هایپرآلژیا کاهش (بهبود) یافته است، که این یافته در تست آلودینیای حرارتی طی روز های (P < ۰/۰۰۱) ۰،۷ (P < ۰/۰۵)، ۱،۴ (P < ۰/۰۵) و ۲،۱ (P < ۰/۰۵) از لحاظ آماری معنی دار بود.

نتیجه گیری: یافته ها بیانگر آنست که حیوانات در مدل درد نوروپاتی CCI حساسیت شدیدی به محرکهای حرارتی و مکانیکی غیر دردناک و محرکهای حرارتی و مکانیکی دردناک نشان می دهند بطوریکه تجویز توأم مورفین و MK-801 در کاهش پاسخ رفتاری نسبت به زمانی که مورفین و MK-801 به تنهایی تجویز می شدند، موثرتر بود.

واژه های کلیدی: Pre-emptive، درد نوروپاتی، آلودینیا، هایپرآلژیا، MK-801، مورفین.

مقدمه

درد است [۲۹]. در مطالعات مشخص شده است که آسیب عصبی محیطی تغییرات ملکولی و الکتروفیزیولوژیکی را در بخش پروگزیمال آکسونها و نیز شاخ خلفی نخاع ایجاد می نماید و آزادسازی بیش از حد گلوتامات در شاخ خلفی نخاع نقش مهمی در بروز و بقای پدیده های آلودینیا و هایپرآلژیا دارد [۱۳ و ۱۹]. همچنین مطالعات کلینیکی نشان داده اند که داروهای اپیوئیدی بویژه مورفین با وجود اینکه بعنوان مهمترین داروهای آنالژزیک محسوب می گردند اثر درمانی ناچیزی در درمان دردهای نوروپاتی دارند و علت آنرا آسیب به اعصاب آوران

درد نوروپاتی یکی از انواع مهم درد مزمن است و به دردی اطلاق می شود که به دنبال آسیب به سیستم عصبی محیطی و مرکزی ایجاد می شود. در این نوع آسیبها فیبرهای حسی و حرکتی و همچنین میدان دریافتی فیبرها دچار اختلال می شود که مهمترین علامت آن افزایش

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
hmanaheji@yahoo.com

گروههای مورد آزمایش

قبل از انجام آزمایش حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۸ موش قرار داشت. در گروه CCI پس از بیهوش نمودن حیوان عصب سیاتیک پای چپ بر طبق مدل CCI تحت فشار (چهار گره شل) قرار می گرفت. در گروه شاهد پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شده و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک بدون دستکاری عصب، پوست و عضله با نخ بخیه ۴/۰ سیلک بخیه زده می شد. چهار گروه دیگر از حیوانات ابتدا تحت تجویز دارو قرار گرفتند و بعد عمل جراحی CCI بر روی آنها انجام می شد.

تجویز دارو

مورفین به میزان ۸ mg و MK-801 به مقدار ۰/۳ mg در یک سی سی نرمال سالین حل شده و بعد بر اساس وزن بدن حیوان بصورت درون صفاقی (i.p.) مورد تجویز قرار می گرفت. چهار گروه حیوان تحت تجویز دارو عبارتند از: گروه دریافت کننده مورفین (۸ mg/kg)، ۳۰ دقیقه قبل از عمل جراحی، گروه دریافت کننده MK-801 (۰/۳ mg/kg)، ۲۰ دقیقه قبل از عمل جراحی و دوز تکمیلی به همین میزان ۶ ساعت بعد از عمل جراحی (۱۸)، گروه دریافت کننده توام دو داروی ذکر شده با همان مشخصات و گروه دریافت کننده سالین با همان حجم و فاصله زمانی که بعنوان گروه کنترل گروههای دریافت کننده دارو محسوب می گردد.

روش جراحی

جهت ایجاد مدل CCI از روش ارایه شده توسط Bennett & Xie استفاده گردید [۲]. ابتدا حیوانات به وسیله ترازوی اوهایوس دقیقاً وزن می شدند و با تزریق درون صفاقی ۵۰ mg/kg (i.p.) پنتوباریتال سدیم بیهوش می گردیدند. سپس موهای بالا و پشت ران حیوان را کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتیمتر بر روی ران پای چپ ایجاد گردید. پس از آشکار شدن قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک با استفاده از ۲ میلیه کوچک شیشه‌ای بافت‌های اطراف عصب جدا گردیده و به وسیله نخ بخیه کات کوت ۴/۰ چهار گره شل به فواصل یک میلیمتر قبل از سه شاخه شدن عصب زده می شد. سختی گره‌ها به گونه ای بود که اختلالی در جریان خون عصب بوجود نیاید. سپس با استفاده از نخ بخیه ۴/۰ سیلک عضله و پوست به صورت جداگانه دوخته می شد. بطور کلی پس از عمل جراحی حیوان را به قفس منتقل کرده و پس از بیهوش آمدن به اتاق مخصوص نگهداری حیوانات منتقل می گردید.

بررسی اعمال رفتاری

تستهای رفتاری زیر برای بررسی رفتار حسی حیوانات قبل از جراحی (روز صفر) و ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از جراحی مورد استفاده قرار گرفت.

اولیه می دانند. این آسیب سبب کاهش بروز گیرنده‌های اپیوئیدی μ نورونهای نخاعی مسیر درد می گردد و از اینرو تأثیر مورفین را کاهش می دهد [۲۶، ۲۷]. از طرفی گلوتامات و آسپاراتات از اسیدهای آمینه تحریکی هستند که نقش نوروترانسمیتری را در سیستم عصبی مرکزی بر عهده دارند و با اثر بر روی گیرنده‌های NMDA نقش اصلی را در انتقال آورانها و در شرایط پاتولوژیک حالت درد دارند [۱۳]. برخی محققین مکانیسم‌های درگیر در تولید و تداوم درد نوروپاتی را نتیجه کاهش اینترنورونهای مهارتی در شاخ خلفی نخاع و همچنین افزایش نوروترانسمیترهای تحریکی مانند گلوتامات و افزایش رسپتورهای آن می دانند [۱۸]. استفاده از برخی بلاک کننده های عصبی باعث کاهش فعالیت گیرنده‌های NMDA مرکزی و به حداقل رساندن تغییرات سیستم اپیوئیدی و گلوتاماتی می شود که پایدار شدن درد و کاهش تأثیر اپیوئیدها در درمان درد را در پی دارد [۱۴]. تجویز اپیوئیدها قبل از آسیب عصب میزان بیان ژن FOS را کاهش می دهد در حالیکه تجویز پس از آسیب در جلوگیری از بروز FOS بی اثر می باشد [۱۹]. گزارش دیگر حاکی از این است که کاربرد MK-801 و مورفین در درمان دردهای نوروپاتی اثر قابل توجهی دارد [۱۶]. برخی مطالعات نشان می دهند که تجویز سیتمیک و نخاعی MK-801، آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده های NMDA، قبل از آسیب عصبی بروز هایپرالژی را به تاخیر انداخته و گاهی اوقات متوقف می کند [۲۵، ۲۶، ۳۱]. جهت مطالعه مکانیسم های درد نوروپاتی طی سالهای گذشته مدل های مختلفی از آسیب عصب حیوانی ارائه شده است که نتایج آنها با مشاهدات بالینی قابل مقایسه است [۵۲، ۱۱۶، ۲۳]. از معروف ترین این مدل ها که توسط Bennett & Xie در سال ۱۹۸۸ ارائه گردیده است مدل Chronic constriction injury (CCI) می باشد. در این مدل علائم درد خودبخودی، پدیده های آلودینیا و هایپرآلژیایی مکانیکی و حرارتی گزارش شده است [۱۷، ۲]. همانطور که در بالا اشاره شد بر اساس مطالعاتی که تا کنون صورت گرفته است گزارشات متفاوتی در خصوص اثرات اپیوئیدها و آنتاگونیست های گیرنده های NMDA نظیر MK-801 و همچنین دوز و زمان استفاده از آنها در درمان دردهای نوروپاتی وجود دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات رفتاری در پاسخ به تجویز پیش درمانی مورفین، MK-801 و تجویز توام MK-801 با مورفین بر روی دردهای نوروپاتی در مدل CCI است.

مواد و روشها

حیوانات

این مطالعه به روش تجربی و بر روی موش های صحرایی نر از نژاد Dawley Sprague (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم انجام گرفت آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در حرارت 22 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری می شدند.

منفی در نظر گرفته می‌شود. بعد درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه می‌گردد.

آنالیز آماری

از نرم افزار Statistica و با استفاده از آزمون Repeated measures ANOVA برای مقایسه نتایج حاصل از تست‌های رفتاری استفاده گردید. همچنین از آنالیز Post hoc از نوع تست Tukey جهت تعیین سطح تفاوت معنی دار بین گروهها استفاده شد. در تست هایپرآلژزیای حرارتی (radiant heat) از آزمون آماری non-parametric (Kruskal-Wallis test) استفاده نمودیم. نتایج به صورت Mean±SEM گزارش شده و $P < 0.05$ معنی دار تلقی گردیده است.

یافته ها

در مدل درد نوروپاتی CCI پاسخ حیوانات به تحریکات حرارتی و مکانیکی غیردردناک (که به ترتیب توسط استن و تارهای von Frey اعمال می‌شد) و نیز به تحریکات حرارتی و مکانیکی دردناک (که بترتیب توسط radiant heat و Pin prick اعمال می‌شد) بررسی گردید.

آلودینیای حرارتی

در مجموعه تستها برای بررسی آلودینیای حرارتی درصد پاسخ به تحریکات ناشی از پاشیدن استن به کف پای حیوان افزایش یافت. همانطوریکه در نمودار ۱ نشان داده شده است اختلاف معنی‌داری بین دو گروه CCI و شاهد در روزهای ۳، ۷ (P < 0.001)، ۱۴ (P < 0.001)، ۲۱ (P < 0.001) و ۲۸ (P < 0.001) بعد از عمل وجود دارد. اختلاف معنی‌داری بین گروه MK-801 + مورفین با گروه سالیین در طی روزهای ۷ (P < 0.001)، ۱۴ (P < 0.05) و ۲۱ (P < 0.05) بعد از عمل نسبت به تست استن وجود دارد. مقایسه پاسخ به تحریکات ناشی از پاشیدن استن در گروه مورفین و MK-801 با سالیین حاکی از پاسخ با دامنه کمتر می‌باشد ولی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

آلودینیای مکانیکی

حساسیت حیوانات نسبت به تحریک مکانیکی غیردردناک که توسط تارهای نازک von Frey اعمال می‌گردید، افزایش یافت. پاسخ به تحریک مکانیکی گروه CCI در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را در روزهای ۷ (P < 0.001)، ۱۴ (P < 0.001)، ۲۱ (P < 0.001) و ۲۸ (P < 0.001) بعد از عمل نشان داد. همانطوری که در نمودار ۲ مشاهده میشود مقایسه پاسخ به تحریکات مکانیکی دریافت کننده مورفین، MK-801 و گروه مورفین + MK-801 با سالیین که در قسمت B نشان داده شده است اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

۱- آلودینیای حرارتی

جهت مشخص کردن حساسیت حیوان به آلودینیای حرارتی از این تست استفاده گردید. در این روش حیوان را بر روی یک شبکه سیمی قرار داده و به وسیله یک سرنگ انسولین که به جای سوزن آن یک لوله باریک پلی‌پروپیلن قرار داشت یک قطره استن به کف پای چپ حیوان پاشیده می‌شد. این آزمایش ۵ بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام می‌گرفت. در صورتی که با پاشیده شدن استن حیوان پای خود را بلند می‌کرد پاسخ مثبت و در غیر این صورت پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. بعد درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه می‌گردد.

۲- آلودینیای مکانیکی

در این تست حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر قرار می‌گرفت. بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید، جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف von Frey در محدوده ۲ تا ۶۰ (۶۰-۲۶-۱۵-۸-۴-۲) گرم ساخت شرکت Stoltzing استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع می‌شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ بترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده می‌گردید. برای ایجاد تحریک هر تار سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده می‌شد. اگر ۲ بار متوالی پاسخ (بلند کردن همان پا بوسیله حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزن بعنوان آستانه پاسخ محسوب شده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. در صورتی که حیوان به هیچیک از تارها از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد [۱۲].

۳- هایپرآلژزیای حرارتی

با استفاده از دستگاه Radiant heat بخش میانی کف پای سالم و آسیب دیده حیوان در مدل CCI از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار می‌گرفت و زمان پس کشیدن پا (Latency) ثبت می‌گردید. تحریکات گرمایی سه مرتبه و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار می‌شدند. روش محاسبه پاسخ در ذیل آمده است [۲]:
میانگین تاخیر پاسخ در پای چپ = تفاوت زمانی پاسخ بین دو پا - میانگین تاخیر پاسخ در پای راست

۴- هایپرآلژزیای مکانیکی

جهت سنجش هایپرآلژزیای مکانیکی حیوان را همانند تست آلودینیای مکانیکی بر روی یک شبکه سیمی قرار داده و ۵ بار متوالی به فاصله ۱۵ ثانیه و به مدت ۱ ثانیه کف پای چپ حیوان با وارد نمودن نیرو توسط Pin Prick تحریک می‌گردید. در صورتی که حیوان پای خود را بلند می‌کرد به عنوان پاسخ مثبت و در غیر این صورت به عنوان پاسخ

هایپرالژیای حرارتی

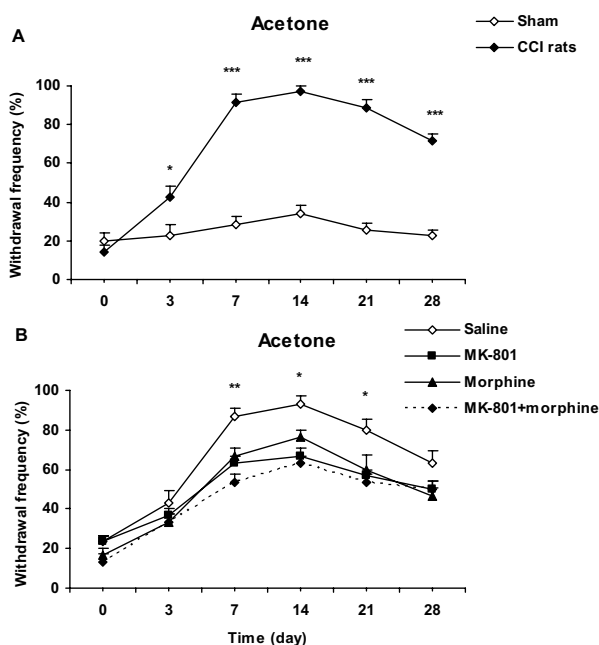
تحریکات دردناک ناشی از اشعه مادون قرمز که توسط دستگاه تحریکات درونک (Radiant heat) انجام می‌شود موجب گردید تا حیوانات ضمن عقب کشیدن پا رفتار تهجمی نظیر لیسیدن پای تحریک شده را از نیز خود نشان دهند. همانگونه که در نمودار ۳ نشان داده شده نتایج حاصل از تحریکات حرارتی دردناک حاکی از آن است که گروه CCI نسبت به گروه شاهد در طی روزهای (P < 0.01) ۱۴ اختلاف معنی‌داری در رفتار نشان می‌دهند. در سایر گروههای تحت آزمایش پاسخ به تحریکات حرارتی دردناک در طی روزهای تست اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

هایپرالژیای مکانیکی

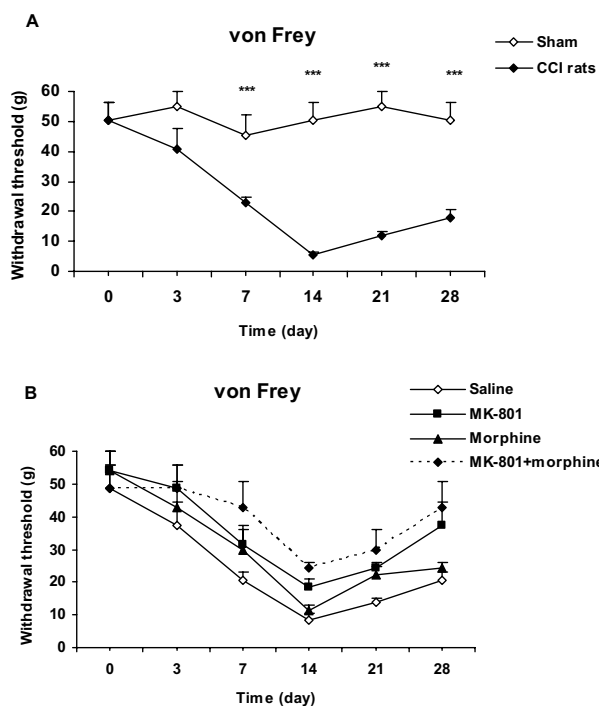
همانطوری که در نمودار ۴ نشان داده شده است درصد پاسخ به تحریک دردناک با pin prick در گروه شاهد تغییر نیافته است اما در گروههای آزمایش افزایش یافته است. پاسخ به تحریک دردناک مکانیکی گروه CCI نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را طی روزهای (P < 0.01) ۳، (P < 0.001) ۷، (P < 0.001) ۱۴، (P < 0.001) ۲۱ و (P < 0.001) ۲۸ بعد از عمل جراحی نشان می‌دهد. اختلاف معنی‌داری بین گروه MK-801 + مورفین با گروه سالین در طی روز (P < 0.05) ۱۴ بعد از عمل نسبت به تست pin prick وجود دارد. اما مقایسه هایپرالژیای مکانیکی در سایر گروههای آزمایش در طول آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

بحث و نتیجه گیری

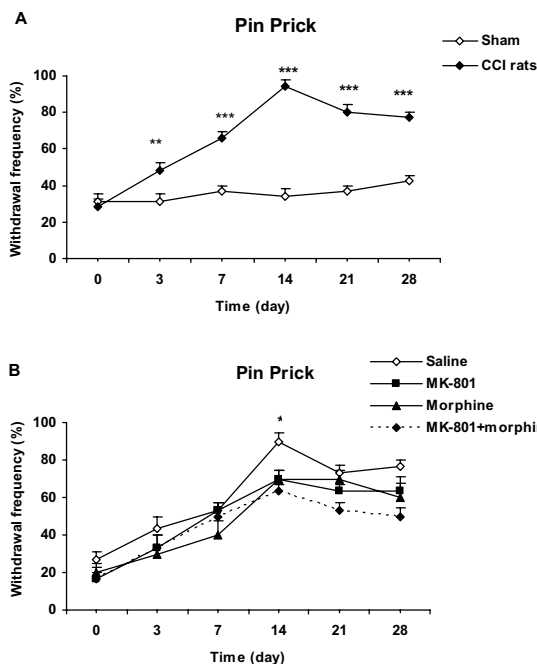
نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در مدل درد نوروپاتی CCI پاسخ به محرکهای حرارتی (سرما) و مکانیکی غیر دردناک (پدیده آلودینیا) و محرکهای حرارتی (گرما) و مکانیکی دردناک (پدیده هایپرالژیای) افزایش می‌یابد. همچنین در این مطالعه مشخص شد که در این مدل پدیده های آلودینیا و هایپرالژیای سه روز بعد از عمل جراحی بروز نموده و در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی به اوج خود می‌رسد و پس از آن بتدریج کاهش می‌یابد. تجویز مورفین و MK-801 بصورت پیش درمانی به تنهایی اثری بر روی آلودینیا مکانیکی و حرارتی و همچنین هایپرالژیای حرارتی و مکانیکی نداشت. اما تجویز توام مورفین و MK-801 آلودینیا سرمای را کاهش داد، گرچه آلودینیا مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی و مکانیکی را به میزان مختصری کاهش داد اما از لحاظ آماری معنی دار نبود. Kim و همکارانش در سال ۱۹۹۷ گزارش دادند که از روز دوم بعد از CCI آلودینیا مکانیکی بروز نموده و بتدریج در هفته دوم هایپرالژیای مکانیکی و حرارتی نیز دیده می‌شود که در اواخر هفته دوم این پدیده ها به اوج خود می‌رسد و تا حدود ۲ ماه بعد از ایجاد CCI ادامه پیدا می‌کند [۱۰]. Bennett و Tal در سال ۱۹۹۴ آلودینیا



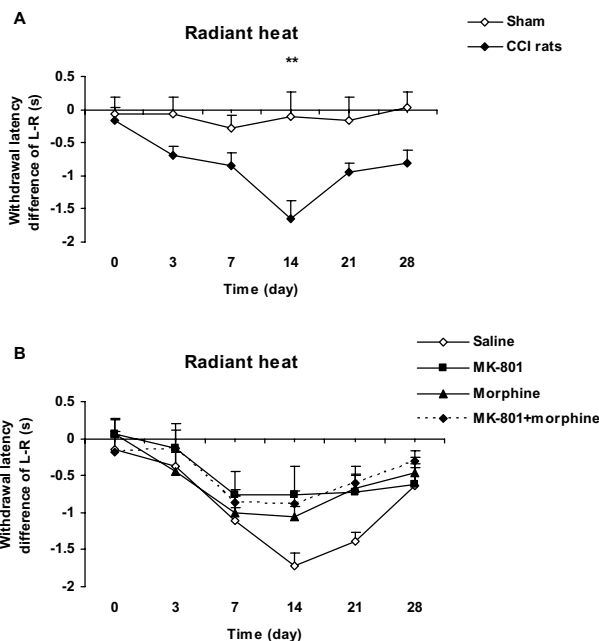
نمودار ۱- مقایسه پاسخ گروههای مختلف به تحریک ناشی از پاشیدن استن (آلودینیا حرارتی). A: مقایسه دو گروه CCI و شاهد را نشان میدهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی آلودینیا حرارتی نشان میدهد. علامت ستاره نشانگر اختلاف معنی دار بین گروههای مورفین + MK-801 و سالین میباشد. *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05



نمودار ۲- مقایسه پاسخ گروههای مختلف به تحریک ناشی از تماس von Frey (آلودینیا مکانیکی). A: مقایسه دو گروه CCI و شاهد را نشان میدهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی آلودینیا مکانیکی نشان میدهد. *** P < 0.001



نمودار ۴ - مقایسه پاسخ گروههای مختلف به تحریک ناشی از Pin prick (هایپرآلژیای مکانیکی). A: مقایسه دو گروه CCI و شاهد را نشان میدهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی هایپرآلژیای مکانیکی نشان میدهد. علامت ستاره نشانگر اختلاف معنی دار بین گروههای مورفین + MK-801 و سالین میباشد. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.



نمودار ۳ - مقایسه پاسخ گروههای مختلف به تحریک ناشی از اشعه مادون قرمز (هایپرآلژیای حرارتی). A: مقایسه دو گروه CCI و شاهد را نشان میدهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی آلودینیای حرارتی نشان میدهد. ** $P < 0.01$.

ما با نتایج دیگران باشد. برخی محققین کاهش تاثیر مورفین در دردهای نوروپاتیک را ناشی از کاهش تعداد گیرنده های اپیویدی پیش سیناپسی می دانند که در نتیجه دژنره شدن نرونهای آوران عصبی ایجاد میگردد [۲۱]. در حقیقت کاهش تعداد گیرنده های اپیویدی μ ممکن است یک عامل مهم در کاهش کارایی مورفین و آگونیست گیرنده اپیویدی μ باشد [۲۲]. مطالعه دیگر نشان داد که ترشح بیش از حد گلوتامات در حالت های التهابی و نوروپاتی سرآغاز یکسری از وقایع درون سلولی است که می تواند به تغییرات مورفولوژیکی و یا حتی مرگ سلولی بیانجامد [۱۷]. بررسی دیگری حاکی از آن است که تزریق مورفین با دوزهای پائین پاسخ به تحریکات ناشی از فیلامانهای von Frey و Pin prick و حساسیت به سرما را کاهش می دهد. همچنین آنتاگونیست های گیرنده NMDA و آنتاگونیست های گیرنده AMPA روی رفتارهای درد در مدل SNI (این مدل توسط Decosterd & Woolf در سال ۲۰۰۰ ارائه شد) بی اثر است [۸]. مطالعات نشان داده است که گلوتامات مترشح از ورودیه های اولیه به نخاع در تحریک بیش از حد گیرنده های NMDA در مدل CCI موثر است [۷]. نتایج ما نشان داد که تجویز مورفین و MK-801 بصورت پیش درمانی به تنهایی اثری بر روی آلودینیای مکانیکی و حرارتی و همچنین هایپرآلژیای حرارتی و مکانیکی نداشت. اما تجویز توام مورفین و MK-801 آلودینیای سرمایی را کاهش داد. در گزارش دیگر نشان داده شده است تجویز MK-801 می تواند مانع شروع هایپرآلژیای و کاهش میزان اپوپتوز گردد [۳۰]. با توجه بر گزارشات علمی ذکر شده مبنی بر تداخل گیرنده های NMDA و اپیویدی و اثر

مکانیکی را در مدل CCI از روز چهارم بعد از عمل گزارش کردند و اعلام نمودند که در روز ۱۵ به حداکثر میرسد [۲۷]. این نتایج با یافته های این پژوهش مبنی بر زمان بروز پدیده های آلودینیا و هایپر آلژیای از روز سوم و میزان حد اکثر در روز چهاردهم مطابقت دارد. در خصوص اثرات اپیویدها بعنوان داروهای آنالژزیک و نیز پیش درمانی با این داروها در کلینیک گزارشات متفاوتی مطرح می باشد [۹ و ۱۰] بدین ترتیب که Wall و همکارانش نشان دادند که تجویز دوزهای پایین اپیویدها، قبل از یک تحریک دردناک می تواند بطور موثری از حساس شدن مرکزی و ایجاد درد جلوگیری نماید [۲۹]. مطالعه دیگر بیانگر این است که کاربرد MK-801 بعنوان آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده های NMDA همراه مورفین بعنوان آگونیست گیرنده های μ در درمان دردهای نوروپاتیک اثر قابل توجهی دارد [۱۶]. Smith و همکارانش با استفاده از تجویز MK-801 با استفاده از دوز 0.3 mg/kg بصورت I.P. قبل از عمل جراحی و ایجاد مدل CCI توانست هایپر آلژیای ناشی از تست مکانیکی را در فواصل زمانی ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز پس از CCI نسبت به گروهی که نرمال سالین گرفته بودند، کاهش دهد [۲۴]. نتایج ارائه شده توسط Davar سال ۱۹۹۱ نشان از یک کاهش در رفتارهای مربوط به درد نوروپاتیک به دنبال تجویز MK-801 دارد [۴]. یافته های ما نشان از کاهش پاسخ درد در پدیده آلودینیای حرارتی در زمان تجویز توام مورفین و MK-801 طی روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۱ بعد از عمل داشت، لیکن در سایر تستهای انجام شده تاثیر مختصری داشت که از لحاظ آماری معنی دار نبود. شاید دوز داروی مورد استفاده، نحوه تجویز و زمان تجویز دارو سبب اختلاف نتایج

- [5] Decosterd I, Woolf CJ, Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 87 (2000) 149-158.
- [6] DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S, Colburn RW, Fromm C, Wagner R, Twitchell BB, Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain* 56 (1994) 9-16.
- [7] Dickenson AH, Matthews EA, Suzuki R, Central nervous system mechanisms of pain in peripheral neuropathy. Neuropathic pain: pathophysiology and treatment, progress in pain research and management. IASP Press, Seattle, 2001.
- [8] Erichsen HK, Munro, GB, Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain. *Pain* 98 (2002) 151-161.
- [9] Galer BS, Neuropathic pain of peripheral origin: advances in pharmacologic treatment. *Neurology* 45 (1995) S17-S25.
- [10] Kim KJ, Yoon YW, Chung JM. Comparison of three rodent neuropathic pain models, Exp. *Brain Res* 113 (1997) 200 – 206.
- [11] Kim S.H, Chung JM, An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 50 (1992) 355-363.
- [12] Kingery WS, Guo TZ, Davies MF, Limbird L, Maze M, The alpha (2A) adrenoceptor and the sympathetic postganglionic neuron contribute to the development of neuropathic heat hyperalgesia in mice. *Pain* 85 (2000) 345-358.
- [13] Lee YW, Park KA, Lee WT, Effects of MK-801 and morphine on spinal CFOS expression during the development of neuropathic pain. *Yonsei Med J* 43 (2002) 370-376.
- [14] Mao J, NMDA Opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Res Rev* 30 (1999) 289-304.
- [15] Mao J, Price D D, Mayer D J, Lu J, Hayes RL, Intrathecal MK-801 and local nerve anesthesia synergistically reduce nociceptive behaviours in rats with experimental peripheral mononeuropathy. *Brain Res* 576 (1992) 254-262.
- [16] Martinez V, Christensen D, Kayser V, The glycine/

بخشی بهتر تجویز توام MK-801 و مورفین در تسکین درد [۱۶و۳] در این پژوهش نیز نشان داده شده است که تجویز توام MK-801 و مورفین بصورت پیش‌درمانی بر روی کاهش درد نوروپاتیکی نسبت به تجویز هر یک از آنها بتنهایی موثرتر است. مطالعات سلولی و ملکولی درد برخی از پیامدهای درد نظیر هایپرآلژزیا و آلودینیا که در التهاب بافتی و آسیب عصب محیطی (مشابه مدل درد CCI) رخ می‌دهند را با فعال شدن گیرنده‌های NMDA و برخی وقایع درون سلولی مرتبط دانسته است [۱۷]. مطالعه دیگر نشان داد که هایپرآلژزیای ناشی از تجویز فرمالین بوسیله MK-801 و مورفین درمان می‌گردد و تجویز IT مورفین و MK-801 بطور موثری در تغییر آلودینیای لمسی درد در مدل L5, L6 موثر است [۲۰].

اطلاعات ارائه شده در این مقاله نشان می‌دهد که در مدل CCI، حیوانات پاسخ رفتاری شدید در مقابل محرکهای غیر دردناک (پدیده آلودینیا) و محرکهای دردناک معمولی (پدیده هایپرآلژزیا) نشان میدهند. به نظر می‌رسد که فعالیت رسپتورهای NMDA در القا و حفظ درد دخالت داشته باشد، بطوریکه تجویز توام MK-801 و مورفین بصورت پیش‌درمانی بر روی پاسخهای رفتاری در حیوانات تحت ضایعه فشاری عصب سیاتیک موثر بوده و در کاهش درد نوروپاتیکی مدل CCI نقش دارد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخاطر تاملین بودجه این پژوهش و همکاران گروه فیزیولوژی آن دانشگاه و نیز گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که در انجام آن به ما یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- [1] Arner S, Meyerson BA, Lack of analgesic effect of opioids on neuropathic and idiopathic forms of pain. *Pain*. 33 (1988) 11-23.
- [2] Bennett GJ, Xie YK, A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33 (1988) 87-107.
- [3] Chapman V, Haley JE, Dickehsen AH, Electrophysiologic analysis of preemptive effects of spinal opioids on N-methyl-D- aspartate receptor – mediated events. *Anesthesiology* 81 (1994) 1429-35.
- [4] Davar G, Hama A, Deykin A, Vos B, Maciewicz R, MK-801 blocks the development of thermal hyperalgesia in a rat model of experimental painful neuropathy. *Brain Res* 553 (1991) 327-330.

- [24] Smith GD, Harrison SM, Birch PJ, Pre-administration of clonidine or MK-801 delays but not prevent the development of mechanical hyperalgesia in a model of mononeuropathy in the rat. *Neurosci Lett* 192 (1995) 33-36.
- [25] Smith GD, Wiseman J, Harrison SM, Elliott PJ, Birch PJ, Pre treatment with MK-801, a non-competitive NMDA antagonist, prevents development of mechanical hyperalgesia in a rat model of chronic neuropathy, but not in a model of chronic inflammation. *Neurosci Lett* 165 (1993) 79-83.
- [26] Stucky CL, Gold MS, Zhang X, Mechanisms of pain. *Proc Natl Acad Sci* 98 (2001) 11845-11846.
- [27] Tal M, Bennett GJ, Extra-territorial pain in rat with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano-allodynia in the territory of an uninjured nerve. *Pain* 57 (1994) 375-382.
- [28] Wall PD, Melzack R. Textbook of pain. 4th edition. London, Churchill Livingstone, 1999, P. 365-366.
- [29] Whiteside GT, Munglani R, Cell death in the superficial dorsal horn in a model of neuropathic pain. *J Neurosci Res* 64 (2001) 168-73.
- [30] Zahn PK, Umali E, Brennan TJ, Intrathecal non-NMDA excitatory amino acid receptor antagonists inhibit pain behaviours in a rat model of postoperative pain. *Pain* 74 (1998) 213-223.
- NMDA receptor antagonist (+)-HA966 enhances the peripheral effect of morphine in neuropathic rats. *Pain* 99 (2002) 537-545.
- [17] Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD, Cellular mechanisms of neuropathic pain morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (1999) 7731-7736.
- [18] Moore KA, Kohno T, Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of spinal cord. *J Neuroscience* 22 (2002) 6724-6731.
- [19] Munglani R, Hunt SP, Molecular biology of pain. *Br J of Anaesthesia*, 75 (1995) 186-192.
- [20] Nichols ML, Lopez Y, Ossipov MH, Bian D, Porreca F, Enhancement of the antiallodynic and antinociceptive efficacy of spinal morphine by antisera to dynorphin A (1-13) or MK-801 in a nerve-ligation model of peripheral neuropathy. *Pain* 69 (1997) 317-322.
- [21] Ossipov MH, Lopez Y, Nichols ML, Bian D, Porreca F, The loss of antinociceptive efficacy of spinal morphine in rats with nerve ligation injury is prevented by reducing spinal afferent drive. *Neurosci Lett* 199 (1995) 87-90.
- [22] Przewlocki R, Przewlocka B, Opioids in chronic pain. *Eur J Pharmacol* 429 (2001) 79-91.
- [23] Seltzer Z, Dubner R, Shir Y, A novel behavioural model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 43 (1990) 205-218.